第41卷 增刊
1998年9月
昆虫学报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
Vol. 41, Suppl.
Sept., 1998

松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶性质比较研究

宗 静 高希武* 郑炳宗 张 帆 孙光芝
(中国农业大学昆虫学系，北京 100094) (吉林农业大学生物防治研究所，长春 130118)

摘要 该文对松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 和螟黄赤眼蜂 *T. chilonis* 羧酸酯酶的毒理学和生物化学性质进行了初步研究。由时间进程曲线确定了赤眼蜂羧酸酯酶活性测定中的最适反应时间为40 min。对两种赤眼蜂单头羧酸酯酶活性的测定表明，松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶活性主要分布在0～1 OD/(mg·min)之间，而螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性主要分布在1～4 OD/(mg·min)之间。比较两种赤眼蜂羧酸酯酶米氏常数（K_m）值，螟黄赤眼蜂羧酸酯酶对底物的亲和力比松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶对底物的亲和力高。对氧磷对螟黄赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的抑制作用没有明显差异，而对氧磷对松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的抑制作用明显强于磷酸三苯酯（TPP）。该文还将棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）羧酸酯酶部分性质与两种赤眼蜂作了比较。

关键词 松毛虫赤眼蜂，螟黄赤眼蜂，羧酸酯酶，杀虫药剂

赤眼蜂属膜翅目赤眼蜂科赤眼蜂属，是我国现代农林害虫生物防治中研究历史最久、应用范围最广、防治面积最大和取得经济效益最为显著的一种有效的天敌。赤眼蜂的寄主范围广泛，涉及鳞翅目、双翅目、鞘翅目、膜翅目、广翅目、脉翅目、同翅目等7个目，44个科，203个属，400多个种，其中松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 的寄主范围有50多种，螟黄赤眼蜂 *T. chilonis* 的寄主范围有30多种，是寄生棉铃虫等害虫卵的优势种[1]。棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）是我国棉区的主要害虫，自1992年在华北地区大暴发至今，连续几年的大发生给棉花的质量和产量带来了严重损失[2,3]，目前，棉铃虫已经对有机氯、有机磷、氨基甲酸酯以及拟除虫菊酯类杀虫药剂产生了抗性[4~8]。农田中化学农药的使用，不但给生态环境带来了不良影响，而且对天敌昆虫种群也造成了严重的破坏，因此一些学者进行了赤眼蜂对化学农药敏感性的研究，但是从生化角度研究赤眼蜂与农药的关系还未见详细报道[1,9,10]。本文就松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶的毒理学和生物化学性质进行了部分研究，旨在为更有效地利用赤眼蜂控制害虫提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试虫

* 联系人
1997-06-27 收稿，1998-05-18 收修改稿

松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂，由吉林农业大学生物防治研究所提供，寄主为柞蚕卵，在25～28℃，相对湿度70%～80%，光周期16 h:8 h条件下羽化。

1.2 试剂与抑制剂

α-乙酸萘酯，上海试剂一厂产品；β-乙酸萘酯，北京化工厂产品；考马斯亮蓝G-250，Fluka公司产品，上海化学试剂采购供应站分装；十二烷基硫酸钠（SDS)，上海卫辉化学试剂厂产品。

对氧磷，含量99%，Sigma公司产品；磷酸三苯酯(TPP)，化学纯，北京化工厂产品。

1.3 羧酸酯酶的制备

赤眼蜂羧酸酯酶制备：取赤眼蜂用pH7.0，0.04 mol/L磷酸缓冲液匀浆，用于酶活性测定。单头赤眼蜂用磷酸缓冲液匀浆后取0.8 mL加0.2 mL缓冲液用于羧酸酯酶活性测定。

1.4 蛋白质含量测定

标准曲线的建立：配制牛血清白蛋白液（1 mg/mL）再分别稀释成0、20、40、60、80、100、120 μg/mL的浓度梯度，各取1 mL，加入5 mL考马斯亮蓝染色液，混匀后在5～60 min内测定OD_{595}值。以OD_{595}值和蛋白质含量求回归方程。

取赤眼蜂若干头用pH7.0，0.04mol/L磷酸缓冲液匀浆后，测定平均蛋白质含量。

1.5 羧酸酯酶测定方法

参照Asperen（1962）[11]方法。以α-乙酸萘酯为底物，测定松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶的时间进程曲线。

用Enzfitter软件计算羧酸酯酶米氏常数（K_m）值。

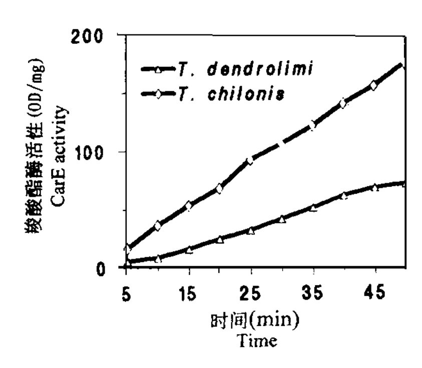


图1 松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶时间进程曲线

Fig. 1 The relationship between reaction time and activity of carboxylesterase in *Trichogramma*

1.6 抑制剂对羧酸酯酶抑制能力的测定

参照高希武等（1989）[12]方法在试管中加入0.5 mL抑制剂（5～6个浓度）和0.5 mL酶液，30℃水浴保温5～10 min，加3.6 mL底物继续在30℃条件下保温40 min（由时间进程曲线确定），加显色剂1 mL，室温放置15 min后，分别在600 nm（α-乙酸萘酯）或555 nm（β-乙酸萘酯）波长下测定OD值，计算抑制率和I_{50}值。

2 结果与分析

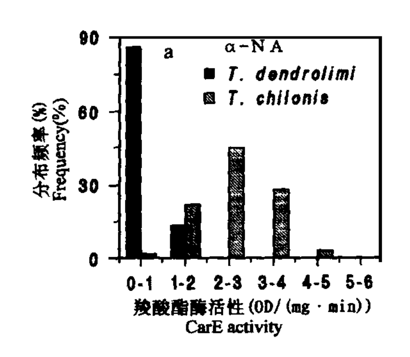
2.1 松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶时间进程曲线比较

图1显示出松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯

酶时间进程曲线，松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶活性在45～50 min时趋于平衡，而螟黄赤眼蜂羧酸酯酶时间进程曲线在45～50 min时仍处于上升趋势，说明螟黄赤眼蜂羧酸酯酶反应的线性时间明显长于松毛虫赤眼蜂。因此，确定40 min为两种赤眼蜂羧酸酯酶测定的最适反应时间。为进一步研究松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶提供了依据。

2.2　松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性分布

对松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂进行单头羧酸酯酶活性的测定，根据羧酸酯酶活性分布作图，从图2:a和图2:b可以看出松毛虫赤眼蜂活性主要分布0～1 OD/(mg·min)之间，而螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性分布在1～4 OD/(mg·min)之间，说明螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性普遍高于松毛虫赤眼蜂。



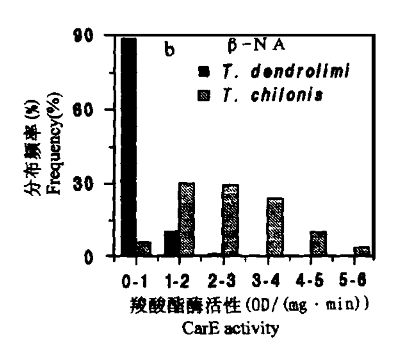


图2　松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性分布

Fig. 2　Activity distribution of carboxylesterase in *Trichogramma*

表1显示出松毛虫赤眼蜂、螟黄赤眼蜂和棉铃虫羧酸酯酶的比活力。松毛虫赤眼蜂、螟黄赤眼蜂和棉铃虫α-乙酸萘酯羧酸酯酶平均比活力差异显著。松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂、棉铃虫β-乙酸萘酯羧酸酯酶平均比活力差异显著，而螟黄赤眼蜂和棉铃虫β-乙酸萘酯羧酸酯酶差异不显著。

表1　松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶平均比活力比较

Table 1　Comparison of carboxylesterase activities between *Trichogramma dendrolimi* and *T. chilonis*

虫种 Species	总虫数 *N*	α-NA (OD/(mg·min))		总虫数 *N*	β-NA (OD/(mg·min))	
松毛虫赤眼蜂 *T. dendrolimi*	101	0.696±0.0302	A*	96	0.720±0.0329	a
螟黄赤眼蜂 *T. chilonis*	100	2.600±0.0855	B	104	2.630±0.1092	b
棉铃虫 Cotton bollworm	120	2.373±0.0576	C	120	2.808±0.0602	b

* 羧酸酯酶平均比活力差异性比较，字母不同者表示差异极显著

2.3　松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂 K_m 值测定

松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的 K_m 值比螟黄赤眼蜂羧酸酯酶的 K_m 值高，说明松毛虫赤眼蜂对底物α-乙酸萘酯和β-乙酸萘酯的亲和力比螟黄赤眼蜂对α-乙酸萘酯和β-乙酸萘酯的亲和力低，其相对亲和力为51/100（α-NA）和80/100（β-NA）（表2）。

表 2 松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶的 K_m 值

Table 2 The K_m value of carboxylesterase in *Trichogramma dendrolimi* and *T. chilonis*

虫种 Species	K_m (mol/L)	
	α-NA	β-NA
松毛虫赤眼蜂 *T. dendrolimi*	$(2.050\pm0.216)\times10^{-4}$	$(2.356\pm0.280)\times10^{-4}$
螟黄赤眼蜂 *T. chilonis*	$(1.050\pm0.100)\times10^{-4}$	$(1.891\pm0.132)\times10^{-4}$
相对亲和力* Relative affinity	51/100	80/100

* 以螟黄赤眼蜂羧酸酯酶对底物的亲和力为 100 进行计算

2.4 抑制剂对松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的抑制

图 3 :a 和图 3 :b 为抑制 5 min 时，对氧磷对松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性的影响，以 α-乙酸萘酯或 β-乙酸萘酯为底物，对氧磷对螟黄赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的抑制作用没有明显差异。

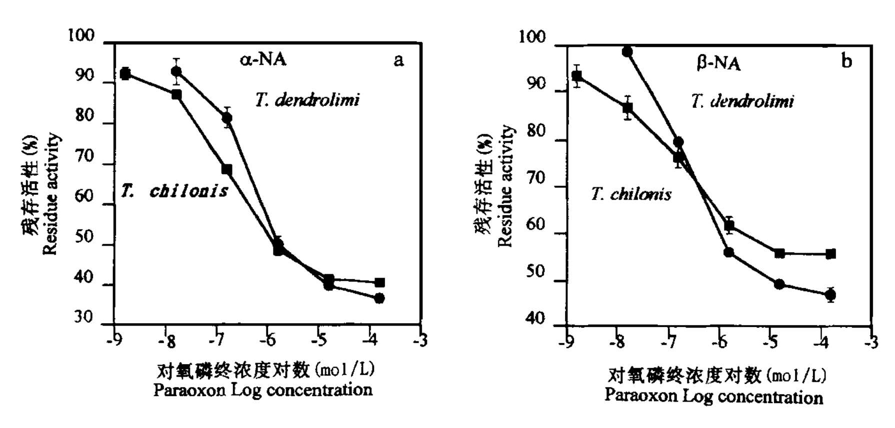


图 3 对氧磷对松毛虫赤眼蜂和螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性的影响

Fig. 3 Inhibition of paraoxon on carboxylesterase activity in *Trichogramma dendrolimi* and *T. chilonis*

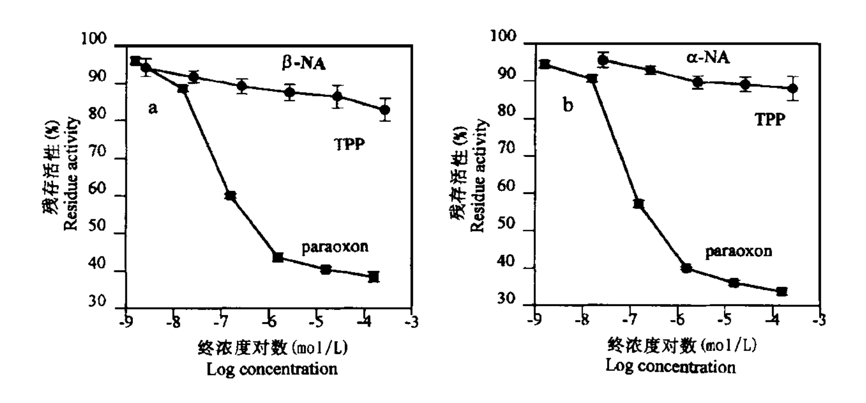


图 4 对氧磷和 TPP 浓度与松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶残存活性的关系

Fig. 4 The relationship between paraoxon or TPP and residual activity of carboxylesterase in *Trichogramma dendrolimi*

图 4 显示对氧磷和 TPP 浓度与松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶残存活性的关系。从图中可以看出，抑制时间为 10min 时，对氧磷对松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的抑制能力明显强于 TPP。对氧磷对松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的 I_{50}值为 1.761×10^{-6}mol/L（α-NA）和 2.803×10^{-6}mol/L（β-NA）。

3 讨论

羧酸酯酶是昆虫对有机磷和拟除虫菊酯类杀虫药剂产生抗性的主要机制之一，螟黄赤眼蜂羧酸酯酶活性比松毛虫赤眼蜂高，表明螟黄赤眼蜂对化学药剂的解毒能力可能比松毛虫赤眼蜂高，因此在田间释放时可作蜂种选择的参考。与棉铃虫羧酸酯酶比较，螟黄赤眼蜂 α-乙酸萘酯羧酸酯酶平均比活力与棉铃虫差异显著，但是螟黄赤眼蜂 β-乙酸萘酯羧酸酯酶平均比活力与棉铃虫差异并不显著，说明螟黄赤眼蜂具有较大的利用潜力。

棉铃虫卵是赤眼蜂的寄主，近年来棉铃虫为害很严重，了解棉铃虫与赤眼蜂解毒酶系的差异对协调棉铃虫的化学防治和利用赤眼蜂进行生物防治具有重要意义。王旭(1996)[13]测得对氧磷对棉铃虫羧酸酯酶的 I_{50}值为 7.95×10^{-8}mol/L（α-NA）和 1.44×10^{-10}mol/L（β-NA），而松毛虫赤眼蜂对对氧磷的 I_{50}值比棉铃虫高 22（α-NA）和 19 468（β-NA）倍。TPP 对棉铃虫羧酸酯酶的 I_{50}值为 9.83×10^{-4}mol/L（α-NA）和 2.08×10^{-4}mol/L（β-NA），而 TPP 在 2.605×10^{-4}mol/L 时对松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶活性的抑制率仅为 12%（α-NA）和 17%（β-NA），因此从理论上讲，松毛虫赤眼蜂羧酸酯酶的解毒能力可能高于棉铃虫。但是，由于棉铃虫发展了多种解毒机制，其活体对农药敏感度低于赤眼蜂。关于赤眼蜂的解毒机制的诱导研究还有待进一步研究。

参 考 文 献

1 包建中，陈修浩．中国赤眼蜂的研究与应用．北京：学术书刊出版社，1988
2 戴小枫，郭予元．棉铃虫大暴发的成因初析．植物保护，1993，19：35～37
3 赵国文，胡冠芳，罗进仓等．三种药剂根施防治棉蚜药效试验．农药，1996，35：25～26
4 林汉连，王 荷，曹 煜等．棉铃虫对拟除虫菊酯抗药性研究．植物保护，1988，14：5～7
5 慕立义，张世安，王开运．棉铃虫、烟草夜蛾的抗性及其治理．农药，1993，32：4～7，9
6 唐振华．昆虫抗药性及其治理．北京：农业出版社，1993
7 王荫长，韩召军．我国农业害虫抗药性发生概况．昆虫知识，1991，28：120～121
8 Daly J C．Insecticide resistance in *Heliothis armigera* in Australia．Pestic．Sci.，1988，23：165～176
9 许 雄，张敏玲．拟澳洲赤眼锋对拟除虫菊酯类农药抗性比较试验．昆虫天敌，1989，11：136～138
10 张敏玲，许 雄．拟除虫菊酯对松毛虫赤眼锋和狭臀瓢虫的毒力测定．昆虫天敌，1991，13（4）：175～177
11 Asperen van K．A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method．J．Insect Physiol.，1962，8:：401～416
12 高希武，郑炳宗，梁同庭等．杀虫剂混用或增效剂对瓜-棉蚜增效作用及机制的研究．植物保护学报，1989，16：273
13 王 旭．棉铃虫羧酸酯酶的毒理学和生物化学研究．中国农业大学硕士学位论文．1996

A PRELIMINARY STUDY ON THE PRORERTIES OF CARBOXYLESTERASE IN *TRICHOGRAMMA DENDROLIMI* AND *T. CHILONIS*

Zong Jing Gao Xiwu Zheng Bingzong
(Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100094)
Zhang Fan Sun Guangzhi
(Institute of Biological Control, Jilin Agricultural University, Changchun 130118)

Abstract The biochemical and toxicological properties of carboxylesterase (CarE) were investigated in *Trichogramma dendrolimi* and *T. chilonis*. The optimal reaction time of CarE with α-NA was 40 minutes. The CarE activity mainly distributed in 0～1 OD/(mg·min) in *T. dendrolimi* and 1～4 OD/(mg·min) in *T. chilonis* respectively. The comparison of Michaelis constants (K_m) of CarE between *T. dendrolimi* and *T. chilonis* indicated that the affinity of the latter to substrate was stronger than that of the former. There was no significant difference of CarE inhibition between *T. dendrolimi* and *T. chilonis* when used paraoxon as inhibitor. The inhibition of paraoxon to the carboxylesterase of *T. dendrolimi* was much stronger than that of TPP.

Key words *Trichogramma dendrolimi*, *T. chilonis*, carboxylesterase, insecticide